



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة 1
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département :Microbiologie

قسم :الميكروبيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Mycologie et Biotechnologie Fongique

Intitulé

**Production de cellulase par *Trichoderma harzianum*
cultivée sur le blé**

Préparé par :

DERARDJA NOURHANE

DEKKICHE ABIR

Le 10 / 09 / 2020

Jury d'évaluation :

Présidente : Mme BENKAHOUL Malika (M.C.B- Université Constantine 1)

Rapporteur : Mme ALMI Hiba (M.C. B-Université Constantine 1)

Examinatrice : Mme MERGOUD Lilia (M.A. A-Université Constantine 1)

Année universitaire :

2019 /2020

Remerciements

*Tout d'abord, nous tenons à remercier Dieu,
de nous avoir donné la santé, la volonté et la patience pour réaliser ce travail
de recherche.*

*Nous tenons à exprimer nos profonds remerciements à notre encadreur
Mme ALMIHiba qui nous a guidés de ses précieux conseils et suggestions, et la
confiance qu'elle nous a témoignés tout au long de ce travail.*

*Nous sommes conscientes de l'honneur que nous a fait Mme BENKAHOUL
Malika en étant président du jury et Mme MERGOUD Lilia
d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Nos profonds remerciements vont également à toutes les personnes qui nous
ont aidés et soutenus de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

*A mes chers **parents**, qui m'ont toujours poussé et motivé dans mes études. Sans eux, je n'aurais certainement pas fait d'études longues. Que Dieu leur donne bonne santé et longue vie.*

*A mes belles sœurs **Rayane** et **Salsabile**, à qui je souhaite tout du bonheur et du succès*

*Dans leur vie. Sans oublier mon seul frère **Badis**, à qui je souhaite beaucoup de succès.*

*Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui étaient toujours à mes côtés et qui m'ont accompagné durant mon chemin d'études supérieures, mes amis; **Amina, Sara,***

***Nourhane** et bien sur mon binôme **Abir**.*

Je vous dis merci

Derardja Nourhane

Dédicaces

A mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études.

A mes chères sœurs Rifka, Asma, Imen, Manel pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral.

A mon chère frère Djamel, pour leur appui et leur encouragement.

A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire.

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infailible

Merci d'être toujours là pour moi.

Dekkiche Abir

Table des matières

Résumés

Liste des figures

Liste des tableaux

| | |
|---|----|
| Introduction..... | 1 |
| Chapitre 1 : Cellulase et les souches fongique cellulolytiques | 2 |
| I.La cellulose..... | 2 |
| I.1. Définition de la cellulose..... | 2 |
| I.2. Source de la cellulose..... | 2 |
| I.3. Structure de la cellulose..... | 3 |
| I.3.1. La structure moléculaire..... | 3 |
| I.3.2. La structure supramoléculaire..... | 3 |
| I.4. Dérives de la cellulose..... | 4 |
| I.4.1. Les esters de cellulose..... | 4 |
| I.4.1. Les éthers de cellulase..... | 4 |
| II. La cellulase..... | 5 |
| II.1. Nomenclature de la cellulase..... | 5 |
| II.2. Définition de la cellulase..... | 5 |
| II.3. Enzymes cellulolytiques..... | 5 |
| II.3.1. Endo β (1-4) glucanase endocellulase (EC 3.2.1.4)..... | 5 |
| II.3.2. Exo β (1-4) glucanase ou cellobiohydrolase (EC 3.2.1.91)..... | 6 |
| II.3.3. β (1-4) glucosidase ou cellobiase (EC 3.2.1.21)..... | 6 |
| II.4. Caractéristiques de la cellulase..... | 6 |
| II.4.1. Réaction et spécificité..... | 6 |
| II.4.2. Substrats naturels..... | 6 |
| II.4.3. Masse moléculaire..... | 6 |
| II.4.4. pH optimum..... | 6 |
| II.4.5. Température optimale..... | 7 |
| II.5. Différentes origines de cellulase..... | 7 |
| II.5.1. Origine animale..... | 7 |
| II.5.2. Origine végétale..... | 7 |
| II.5.3. Origine microbienne..... | 7 |
| II.6. Mécanismes d'action de cellulase..... | 8 |
| II.7. Domaine d'application de la cellulase..... | 9 |
| III. Les champignons cellulolytiques..... | 10 |
| III.1. <i>Trichoderma harzianum</i> | 10 |

| | |
|---|-----------|
| III.1.1. Introduction générale..... | 10 |
| III.1.2. Morphologie..... | 10 |
| III.1.3. Taxonomie..... | 11 |
| III.1.4. Ecologie..... | 12 |
| | |
| Chapitre 2 : La fermentation sur milieu solide..... | 13 |
| | |
| I. Définition de la fermentation en milieu solide..... | 13 |
| II. Les avantages et les inconvénients..... | 13 |
| II.1. Les avantages..... | 13 |
| II.2. Les inconvénients..... | 14 |
| III. Les diverses étapes suivie en fermentation solide..... | 14 |
| III.1. La préparation du substrat carboné..... | 14 |
| III.2. L'inoculation et incubation du milieu de culture..... | 14 |
| III.3. L'extraction..... | 14 |
| IV. Domaine d'application de la fermentation solide..... | 15 |
| | |
| Chapitre 3 : La matière première « Le blé »..... | 17 |
| | |
| I. Le blé..... | 17 |
| I.1. Présentation..... | 17 |
| II. La structure du blé..... | 17 |
| III. La composition du blé..... | 17 |
| IV. L'utilisation du blé..... | 18 |
| IV.1. Le blé tendre..... | 18 |
| IV.2. Le blé dure..... | 18 |
| | |
| Conclusion..... | 19 |
| | |
| Référence..... | 20 |

Résumé

Résumé

La cellulose est un substrat glucidique utilisé comme une source carbonique et énergétique pour les microorganismes cellulolytiques tels que les champignons microscopiques. Ces derniers sécrètent des enzymes qui ont la capacité d'hydrolyser la cellulose en glucose, ces enzymes appelés les cellulases.

Pour une production optimale des cellulases, il faut que les moisissures se cultivent dans des milieux de culture à des conditions optimales tels que le pH, la T° et le substrat carboné. En plus de ces conditions; la sélection de la meilleure souche performante est l'une des premières étapes dans cette production. *Trichoderma harzianum* est l'espèce la plus utilisée.

Ces enzymes peuvent être obtenus à partir du blé, à faible coût par fermentation en milieu solide.

Mots clés : Cellulase, *Trichoderma harzianum*, fermentation en milieu solide, le blé.

Abstract

Cellulose is a carbohydrate substrate used as a carbon and energy source for cellulolytic microorganisms such as microscopic fungi. The latter secrete enzymes which have the capacity to hydrolyze cellulose to glucose; these enzymes called cellulases.

For an optimum production of cellulases, it is necessary that the molds grow in culture media under optimum conditions such as pH, T° and carbonaceous substrate. In addition to these conditions the selection of the best performing strain is one of the first steps in this production. *Trichoderma harzianum* is the common mold species to use.

These enzymes can be obtained from wheat inexpensively by fermentation in solid medium.

Keywords: Cellulase, *Trichoderma harzianum*, solid state fermentation, wheat.

ملخص

السليولوز عبارة عن ركيزة كربوهيدراتية تستخدم كمصدر للطاقة للكائنات الحية الدقيقة المحللة للسليولوز مثل الفطريات المجهرية. هذا الأخير يفرز الانزيمات التي لديها القدرة على تحلل السليولوز الى الجلوكوز تسمى هذه الانزيمات السليولاز.

من اجل الإنتاج الأمثل للسليولاز، يجب زراعة القوالب تحت الظروف المثلى مثل الاس الهيدروجيني و T° و الركيزة الكربونية. بالإضافة الى هذه الظروف، يعد اختيار السلالات اداءا من أولى الخطوات في هذا الإنتاج.

هو أكثر أنواع العفن شيوعا للاستخدام. *Trichoderma harzianum*

يمكن الحصول على هذه الانزيمات من القمح بتكلفة زهيدة عن طريق التخمير في وسط صلب.

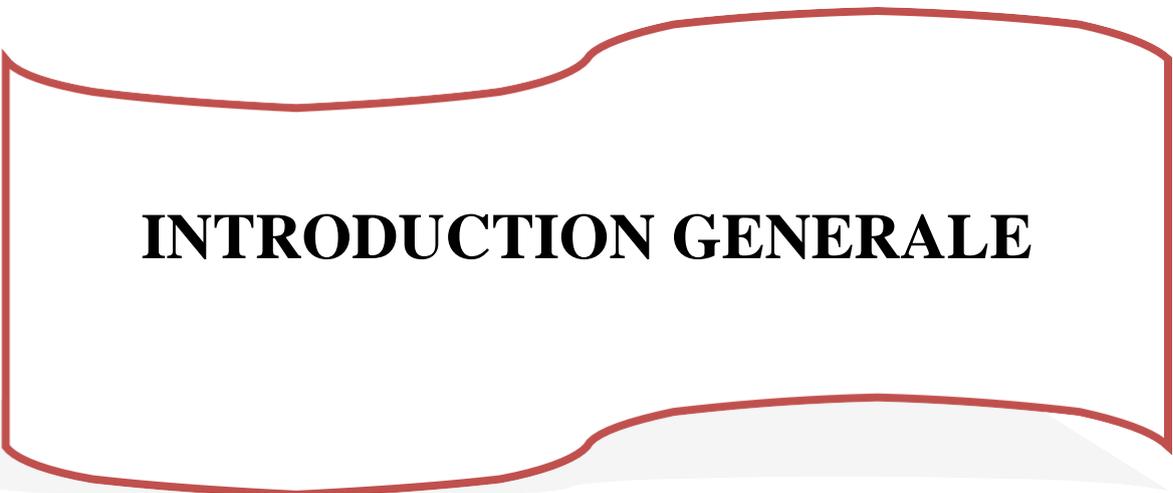
كلمات مفتاحية السليولاز *Trichoderma harzianum*، التخمير الصلب، القمح.:

Liste des figures

| | |
|--|-----------|
| Figure 1 : Structure de la cellulose..... | 02 |
| Figure 2 : Arrangement cristallin des chaînes d'une microfibrille de cellulose..... | 04 |
| Figure 3 : Structure supramoléculaire de la cellulose | 04 |
| Figure 4 : Structure chimique de la carboxyméthylcellulose (CMC) | 05 |
| Figure 5 : Schéma générale de la dégradation de la cellulose..... | 09 |
| Figure 6 : Aspect microscopique de <i>Trichoderma</i> | 11 |
| Figure 7 : La structure du blé | 17 |

Liste des tableaux

| | |
|--|-----------|
| Tableau 1 : Différentes sources de cellulose..... | 02 |
| Tableau 2 : Les microorganismes producteurs de cellulase | 07 |
| Tableau 3 : Applications industrielles de la cellulase | 09 |
| Tableau 4 : La position taxonomique actuelle des <i>Trichoderma</i> sp..... | 11 |
| Tableau 5 : Principales applications des processus de la fermentation solide dans les divers secteurs économiques | 16 |



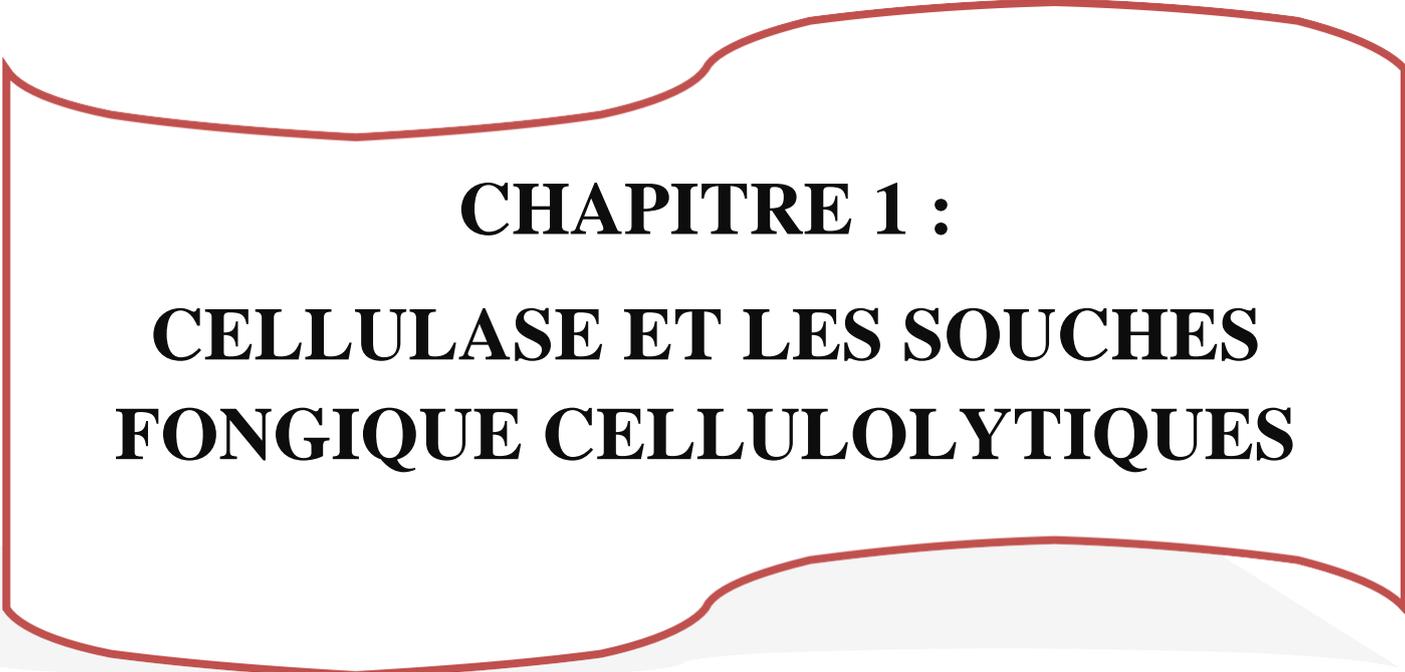
INTRODUCTION GENERALE

Introduction

La cellulose, matériel structural de base des parois cellulaires des végétaux, est la macromolécule la plus abondante et la plus largement synthétisée dans le monde végétal. Elle constitue une source d'énergie renouvelable pratiquement inépuisable et peu exploitée. L'efficacité d'hydrolyse de la cellulose en glucose nécessite une coopération des différentes enzymes. Les enzymes d'origine microbienne présentent des propriétés et des spécificités diverses. Ces propriétés reflètent de plus en plus leurs utilisations dans divers domaines d'applications, tels que l'industrie alimentaire humaine et animale, les détergents pour lessives, l'industrie des tanneries et l'industrie pharmaceutique. Environ 40% des enzymes industrielles sont d'origine fongique (Botton *et al.*, 1990), tels que les moisissures du genre *Trichoderma* qui produit la plupart des enzymes. Appartenant aux enzymes de la famille des hydrolases tels que les cellulases qui sont les plus importantes enzymes à l'échelle industrielle, ce qui les rendent l'un des outils-clés des biotechnologies (Little, 2004).

Les champignons qui produisent des cellulases sont généralement cultivés sur des substrats solides dans un environnement qui est similaire à leur environnement naturel. Le processus fermentation en milieu solide est l'un des procédés les plus impliqués en industrie vu les faibles coûts d'investissement et d'exploitation. Cela a fait une alternative intéressante pour la production de cellulases.

Toutefois, la production des enzymes hydrolases particulièrement les cellulases par procédés biotechnologiques (fermentation), nécessite non seulement l'identification et la sélection des microorganismes cellulolytiques mais également le choix d'un substrat de fermentation à faible coût d'une part, et convenable en point de vue composition en élément nutritifs nécessaires au développement des microorganismes et la production des enzymes, d'autre part. L'un des substrats les plus utilisés est le blé.



CHAPITRE 1 :
CELLULASE ET LES SOUCHES
FONGIQUE CELLULOLYTIQUES

I. La cellulose

I.1. Définition decellulose

La cellulose est le polymère le plus abondant dans la biosphère (Juwaied et *al.*,2011). Selon Barnoud (1980), elle constitue un polymère naturel qui a un rôle structural de premier plan dans la grande majorité des parois végétales. Élément constitutif majeur de bois, la cellulose est également rencontrée comme constituant presque unique du coton et des fibres textiles du type lin et chanvre. Elle représente 40 à 49 % de la matière sèche chez les résineux ou conifère (pin, sapin, épicéa) et 30 à 40 % chez les feuillus (peuplier, hêtre, charme) (Marouf et Tremblin, 2009). D'un point de vue biochimique, la cellulose est un homopolysaccharide linéaire et insoluble, composé d'unités D-anhydroglucopyranose reliées entre elles par des liaisons osidiques de type β -1,4(Percivalet *al.*,2006 ; Lopes, 2008 ; Chundawatet *al.*, 2011).

I.2.Source decellulose

Selon Marouf et Tremblin (2009), la cellulose se trouve surtout dans la paroi secondaire, accompagnée par les lignines, mais aussi dans la paroi primaire de la fibre. A l'exception du coton, la cellulose n'est disponible que sous forme de résidus lignocellulosique. Les fibres de cellulose sont habituellement à l'état combiné avec d'autres polymères : l'hémicellulose et la lignine qui réduisent ainsi son accessibilité aux cellulases (Cullen et Kersten, 1992). Les déchets issus de l'agriculture et des industries peuvent constituer une source importante de lignocellulose. Ainsi les diverses céréales cultivées dans le monde fournissent près de 1,7 milliards de tonnes de paille par an dont la majeure partie est inutilisée (Sasson, 1986). A ses résidus s'ajoutent les tourteaux et pailles des oléagineux, les feuilles et collectes des betteraves sucrières et les fanes des fruits et légumes (pommes de terre, topinambours...). Les déchets de l'exploitation de bois et des industries annexes (sciure) représentent également une source importante de résidus lignocellulosiques. Par ailleurs, les déchets urbains sont une source additionnelle de matière première cellulosique. En effet, 40 à 50% des déchets municipaux solides sont de la cellulose. Le tableau 1 représente différentes sources de cellulose.

Tableau 1 : *Différentes sources de cellulose* (Sasson, 1986).

| Source de cellulose | Teneur en % | Degré de polymérisation |
|--------------------------|-------------|-------------------------|
| Bagasse de canne à sucre | 35 -45 | 700 - 900 |
| Bambou | 40- 55 | |
| Coton | 90 -99 | 8000 – 14000 |
| Bois | 40- 50 | 7500 – 9000 |
| Paille | 40 -50 | |
| Lain | 70 -75 | 7000- 8000 |

I.3. Structure de lacellulose

I.3.1. La structuremoléculaire

La cellulose est un homo polysaccharide composé de longues chaînes de β (1 \rightarrow 4) -D glucose, basé sur la répétition d'unité de cellobiose (Fonty et Chaucheyras - Durand, 2007). Les unités de glucose sont en conformation chaise, la plus stable avec les groupes hydroxyle en position équatoriale. Les deux groupes OH qui se trouvent aux extrémités de la chaîne ont un comportement différent : le C-1 qui se trouve à l'une des extrémités est un groupe aldéhyde et a des propriétés réductrices tandis que le C-4 qui se trouve à l'autre extrémité de la chaîne est un groupement hydroxyle alcool et donc non-réducteur (Figure1).

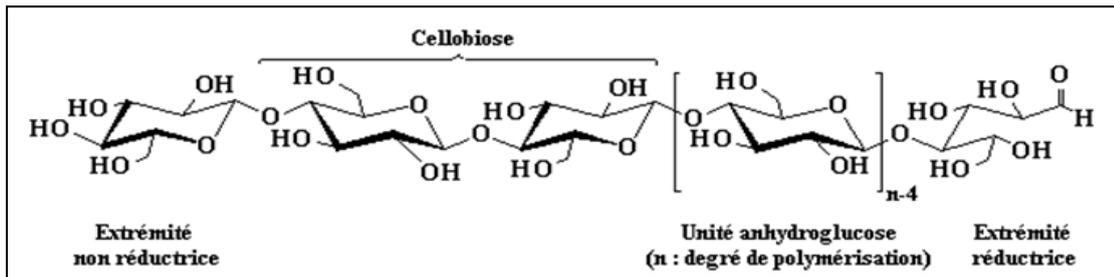


Figure 1 : Structure de la cellulose (Mazza, 2009).

La grandeur de la chaîne moléculaire est habituellement caractérisée par le degré de polymérisation (DP). Celui-ci exprime le nombre de monomères présents dans la chaîne cellulosique (Reguant et Rinaudo, 1999).

I.3.2. La structuresupramoléculaire

Les nombreux groupements hydroxyles sont responsables du comportement physicochimique de la cellulose. Selon leur position dans l'unité glucose, ils sont capables de former des liaisons hydrogène intramoléculaires à l'intérieur d'une même chaîne de cellulose ou intermoléculaires entre deux chaînes différentes constituant ainsi des microdomaines hautement organisés (figure 2). Ces liaisons hydrogène sont responsables de la formation des microfibrilles dans lesquelles certaines régions sont hautement ordonnées (régions cristallines) et d'autres moins (régions amorphes). Les microfibrilles de cellulose sont imbriquées dans une matrice d'hémicelluloses et de lignine, le tout constituant la paroi cellulaire (figure 3) (Lekounougou, 2008).

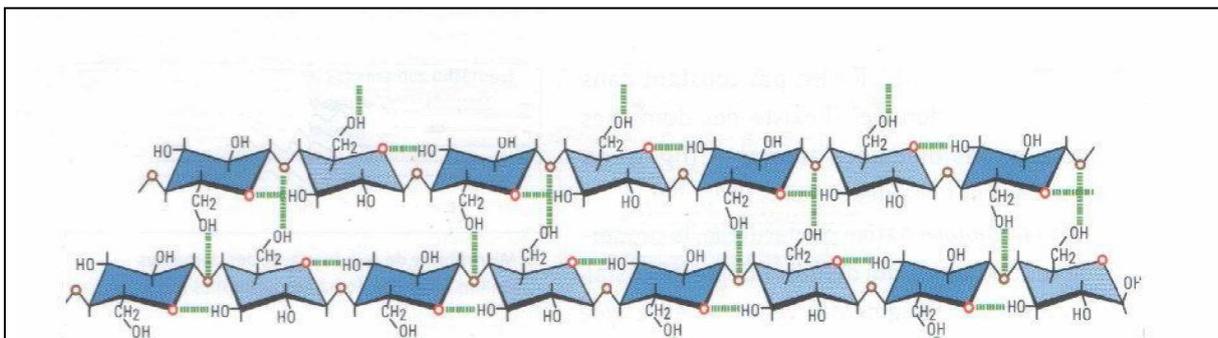


Figure 2 : Arrangement cristallin des chaînes d'une microfibrille de cellulose (Res et al.,2006).

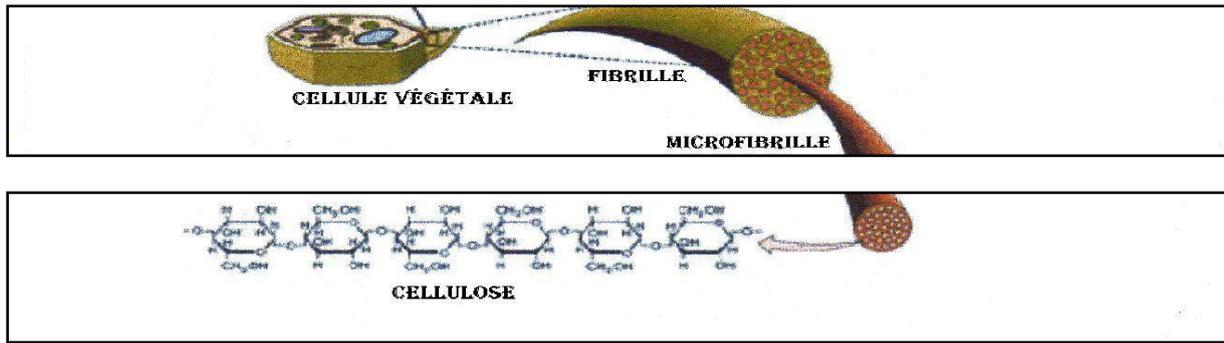


Figure 3: Structure supramoléculaire de la cellulose (O'Dwyer, 2005).

I.4. Dérives de lacellulose

Parmi la grande variété des dérivés de la cellulose, on peut distinguer les deux groupes principaux en fonction du type de substituant : ce sont les dérivés esters et les dérivés éthers.

I.4.1. Les esters decellulose

Les esters de cellulose sont formés par estérification des groupements hydroxyles libres de la cellulose au moyen d'un ou plusieurs acides (Reguant et Rinaudo, 1999).

I.4.2. Les éthers de cellulose

Les éthers de cellulose sont obtenus par la substitution des groupements hydroxyles par des groupements éther. Ces composés, en fonction du type de substituant, peuvent être solubles dans l'eau ou les solvants organiques. La carboxyméthyl cellulose (C.M.C.) est l'éther de cellulose dont la production est la plus importante. La réaction se produit entre l'alcali-cellulose et le chloroacétate de sodium ou l'acide chloroacétique. Selon Reguant et Rinaudo (1999), les principales propriétés de la CMC qui déterminent son utilisation ultérieure résident dans son caractère hydrophile, sa forte viscosité en solution aqueuse (épaississant), ses bonnes propriétés à former des films, son excellent comportement comme colloïde et adhésif. La structure chimique de la CMC est illustrée dans la figure 4.

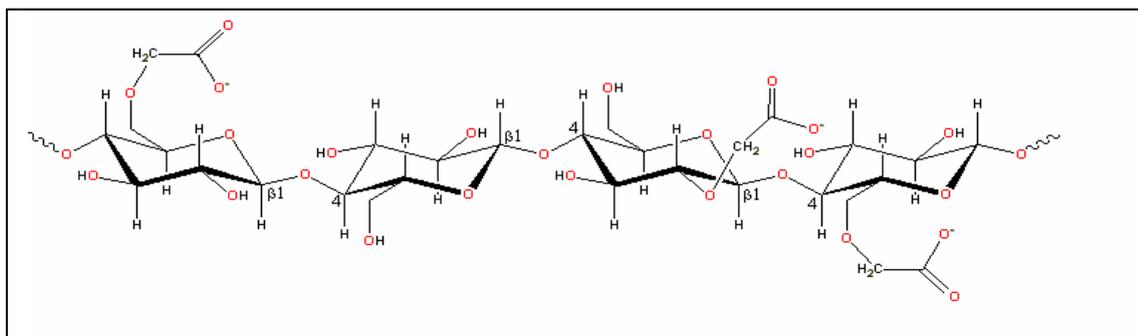


Figure 4 : Structure chimique de la carboxyméthylcellulose (CMC) (Nishikawa et al., 1998)

II. La cellulases

II.1. Nomenclature de lacellulase

Nom codifié : E.C.3.2.1.4

Nom systématique : 1,4-(1,3 ; 1,4)- β -D-Glucan 4-glucanohydrolase.

Nom recommandé : Cellulase.

Synonymes : Endoglucanase, Endo-1,4- β -Glucanase, Cellulase carboxyméthylrique, β -1,4-endoglucanhydrolase, Celludextrinase, Avicelase, ect. (Schamburg et Salzman, 1991).

II.2. Définition de lacellulase

Les cellulases des champignons filamenteux se présentent sous la forme de complexes enzymatiques sécrétés dans le milieu de culture. Ces enzymes sont des protéines modulaires constituées d'un module catalytique, permettant l'hydrolyse d'une liaison osidique, d'où l'appellation de glycosides hydrolases, et d'un module de liaison ou CBM (*Carbohydrate Binding Module*), permettant à la fois de localiser et de déstructurer le substrat, facilitant ainsi l'interaction enzyme-substrat. Ces deux modules sont reliés entre eux par un pont peptidique (Lopes, 2008 ; Saddler *et al.*, 2010 ; Ballerini, 2011).

II.3. Enzymecellulolytique

Le système cellulolytique de référence est repose principalement sur l'action complémentaire de trois types d'enzymes :

II.3.1. Endo β (1-4) glucanase ou endocellulase (EC3.2.1.4)

Cette enzyme coupe aléatoirement les liaisons β -(1 \rightarrow 4) de la chaîne cellulosique au niveau des régions amorphes, en créant de nouvelles extrémités non réductrices qui serviront de sites réactifs pour les cellobiohydrolases. Les produits d'hydrolyse constituent un mélange de cellodextrines, de cellobiose et de glucose. Les endoglucanases sont généralement dosés par la réduction de la viscosité dans la solution de carboxyméthylcellulose (CMC) (Tahir Nadeem, 2009). Selon Scriban (1999), tous les microorganismes cellulolytiques possèdent au moins une endocellulase, parfois plusieurs à caractéristiques trèsdifférentes.

II.3.1. Exo β (1-4) glucanase ou cellobiohydrolase (EC3.2.1.91)

Cette enzyme attaque les polymères de cellulose par les extrémités non réductrices et libère exclusivement du cellobiose (Bonnin *et al.*, 1997 ; Arnaud et Guiraud, 1999 ; Xu *et al.*, 2007). L'enzyme seule n'est active, ni sur la cellulose cristalline, ni sur les celluloses solubles (carboxyméthyl cellulose). Par contre, elle attaque les celluloses partiellement dégradées. Le rôle essentiel de cette enzyme est de permettre l'action de l'endocellulase sur la cellulose cristalline.

II.3.3. β (1-4) glucosidase ou cellobiase (EC3.2.1.21)

La cellobiase hydrolyse la liaison β -glucosidique du cellobiose et libère deux molécules de glucose. Selon sa spécificité, la cellobiase peut être active sur les β (1 \rightarrow 4) oligoglucosides, cependant, son activité diminue rapidement quand la longueur de la chaîne augmente (Lynd *et al.*, 2002). De nombreux auteurs ont montré que la cellobiase est fortement inhibée par son produit d'hydrolyse : le glucose. L'importance du rôle de la cellobiase lors d'une saccharification a été soulignée par divers auteurs. En effet, en hydrolysant le cellobiose, la cellobiase permet d'éviter l'inhibition de la cellobiohydrolase. Ainsi la vitesse globale de la cellulolyse est étroitement dépendante de l'activité cellobiasique (Arnaud et Guiraud, 1999; Xu *et al.*, 2007).

II.4. Caractéristiques de la cellulase

II.4.1. Réaction et spécificité

Elle est représentée par l'hydrolyse des liaisons 1,4- β -D- glucosidiques de la cellulose et des lignines mais aussi l'hydrolyse des liaisons 1,4 et 1,3 en β -D- glucanes (Schamburg et Salzmann, 1991).

II.4.2. Substrats naturels

Selon Roussos (1987), le substrat naturel de la cellulase est la cellulose brute dont la dégradation complète aboutit à des espèces solubles dans l'eau du type cellobiose et glucose.

II.4.3. Masse moléculaire

Les cellulases ont des masses moléculaires très variables qui dépendent principalement de leurs origines. Certaines endoglucanases ont des masses moléculaires de 30 à 90 KDa, alors que d'autres sont de dimensions beaucoup plus faibles de l'ordre de 13 KDa (Odiar et Rouau, 1985). Les exoglucanases ont des poids moléculaires de 30 à 50 KDa (Singh *et al.*, 1990) alors que les α -glucosidases ont des masses moléculaires plus élevées variant de 90 à 240 KDa (Sanyalet *et al.*, 1988).

II.4.4. pH optimum

La plupart des préparations cellulolytiques étudiées ont un pH optimum variant de 3 à 7 (Lynd *et al.*, 2002). Celles d'origine fongique ont une gamme plus limitée (pH de 4 à 5), contrairement aux cellulases bactériennes dont le pH optimum est proche de la neutralité (Buchholz *et al.*, 1983).

II.4.5. Température optimale

La température optimale des cellulases fongiques varie entre 40 et 70°C alors que celle des bactéries varie entre 50 et 100°C, ce qui explique leur utilisation en industrie du textile (Ando *et al.*, 2002).

II.5. Différentes origines de cellulase

Les cellulases sont largement répandues dans la nature, elles sont recensées chez des organismes très divers : bactéries, champignons, plantes... etc. De ce fait, les cellulases peuvent avoir plusieurs origines : animale, végétale et microbienne (Xu *et al.*, 2000).

II.5.1. Origine animale

Plusieurs espèces animales (omnivores et herbivores) utilisent la cellulose comme source d'énergie, malgré leur incapacité à produire des cellulases endogènes, mais ceci est dû à une vie symbiotique des microorganismes dans leur système digestif. Des cellulases ont été isolées à partir du tube digestif d'escargot comestible (Smantet *al.*, 1998).

II.5.2. Origine végétale

Les cellulases jouent un rôle important dans la maturation des fruits où elles participent à la libération des arômes. Ces enzymes végétales sont généralement obtenues par extraction à partir des fruits tels que les grains de raisin, les amandes douces, des céréales tels que l'orge et le riz de la variété *Oryza sativa*. Les préparations cellulasiques d'origine végétale sont dépourvues d'exo-β-glucanases (Xu *et al.*, 2000).

II.5.3. Origine microbienne

Les micro-organismes cellulolytiques, qui interviennent au niveau de la première étape du processus (qui s'avère être l'étape limitant), constituent un large groupe très disparait comprenant des champignons et des bactéries peuvent être aérobie ou anaérobies, thermophiles ou mésophiles (Beguinet *al.* , 199). Certains de ces micro-organismes sont récapitulés dans le tableau 2 :

Tableau 2 : Les microorganismes producteur de cellulase (Muhammad *et al.*, 2016).

| Groupes | Genres | Espèces |
|--------------|------------------------|------------------------------------|
| Bactérie | Bacillus | <i>Bacillus sp</i> |
| | Acidothermus | A |
| | Pseudomonas | <i>.Cellulyticus P.Cellulosa C</i> |
| | Clostridium | <i>.thermocellum C.acetobuty</i> |
| | Clostridium | <i>lium</i> |
| Champignons | Fusarium | <i>F.salani</i> |
| | Aspergillus | <i>A.Niger</i> |
| | Aspergillus | <i>A.fumigatus</i> |
| | Aspergillus | <i>A.acculeatus</i> |
| | Aspergillus | <i>A.nidulans</i> |
| | Humicola | <i>H.grisea</i> |
| | Humicola | <i>H.insolens</i> |
| | Trichoderma | <i>T.reesai</i> |
| | Trichoderma | <i>T.koningii</i> |
| | Trichoderma | <i>T.viride</i> |
| | Trichoderma | <i>T.harjianum</i> |
| | Trichoderma | <i>T.branchiatum</i> |
| | Sclerotium | <i>S.rolfsii</i> |
| | Acremonium | <i>A.cellulyticus</i> |
| | Fusarium | <i>F.solani</i> |
| Sporotrichum | <i>S.cellulophilum</i> | |

| | Penicillium | <i>P.fumiculosum</i> |
|---------------|---------------|-----------------------|
| Actinomycètes | Streptomyces | <i>S.lividans</i> |
| | Streptomyces | <i>S.drozdowiejii</i> |
| | Cellulomonas | <i>C.uda</i> |
| | Cellulomonas | <i>C.fimi</i> |
| | Cellulomonas | <i>C.bioajotea</i> |
| | Thermonospora | <i>T.curvata</i> |
| | Thermonospora | <i>T.fusca</i> |

II.6. Mécanismes d'action de cellulase

Sous le nom de cellulase, sont regroupées plusieurs enzymes dont seule l'action synergique peut aboutir à l'hydrolyse complète de la cellulose cristalline. L'hydrolyse complète de la cellulose en unités glucose nécessite l'action combinée de multiples enzymes qui prennent différentes spécificités. Le mécanisme de la biodégradation de la cellulose, illustré dans la figure 5, montre la synergie des différentes enzymes. En premier lieu, les cellobiohydrolases (EC3.2.1.91) clivent des unités cellobiose (disaccharide) à partir de l'extrémité non réductrice de la chaîne polysaccharide. Les endoglucanases (EC 3.2.1.4) coupent à l'intérieur de la chaîne dans les régions amorphes de la cellulose microcristalline, augmentant ainsi le nombre de sites de coupures en fin de chaîne pour les cellobiohydrolases.

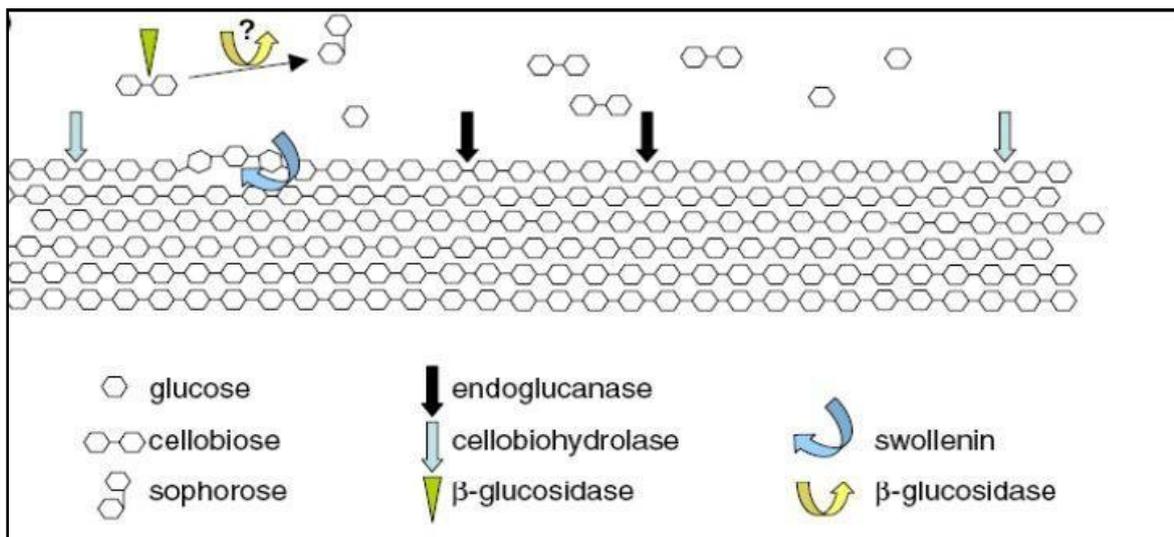


Figure 5 : Schéma général de la dégradation de la cellulose. (Alarcon-gutierrez, 2007).

Enfin, les β-glucosidases (EC 3.2.1.21) hydrolysent le cellobiose en glucose qui sera métabolisé par les champignons filamenteux (Tourasse, 2005). Ce processus fait intervenir d'autres protéines (les swollenines), pour affaiblir les liaisons hydrogène de la cellulose cristalline (Alarcon-gutierrez, 2007), et faciliter l'accès aux sites de liaison et d'hydrolyse (Tourasse, 2005).

II.7. Domaine d'application de lacellulase

L'intérêt que porte la biotechnologie aux cellulases s'explique par leurs vastes applications. En effet, leur utilisation permet la production de glucose, élément de base, d'où l'importance, écologique et industrielle, considérable des cellulases (Receveur *et al.*, 2002), ce qui revoie à différentes applications industrielles (Tableau 3).

Tableau 3 : Applications industrielles de la cellulase (Receveur *et al.*, 2002).

| | |
|--|--|
| Industries alimentaires | Faciliter la filtration de diverses suspensions, riches en fibres cellulosiques (Scriban, 1993). Traitements de différents produits pour améliorer leurs qualités, où les cellulases sont utilisées sous forme de mélange d'enzymes. |
| Industries des textiles et des détergents | Elles sont utilisées au cours de la finition, pour donner l'aspect aux vêtements en jean après lavage et améliorer l'apparence des tissus par élimination des tâches (Gusakovet <i>al.</i> , 2000). Aussi dans les lessives afin d'améliorer l'apparence et la brillance des couleurs (Maurer, 1997 ; Cavako-Paulo, 1998). |
| Industrie de papeterie | Dans la fabrication des pâtes à papier, l'addition de cellulases, aux suspensions de pâtes en cours de lavage et surtout aux suspensions de pâtes de papier de recyclage, améliore significativement leur filtrabilité et conduit à des économies importantes de consommation d'eau (Scriban, 1993). |
| Nutrition animale | Utilisées comme additifs dans l'alimentation animale car l'addition des cellulases, auxaliments pour porcins, améliore leur digestibilité, ce qui réduit l'excrétion de cellulose non digérée (et donc diminue la charge polluante des excréta) (Scriban, 1993 ; Gusakovet <i>al.</i> , 2000). |
| Industrie Thérapeutique | L'utilisation quasi confidentielle de certaines cellulases dansdes formules médicamenteuses à vocation d'aide digestive (Odier et Rouau, 1985 ; Scriban,1993). |
| Production de biocarburants | Aujourd'hui il existe deux grandes filières de production de biocarburants : 1. La filière éthanol qui comprend l'éthanol et l'ETBE pour les véhiculesessence. 2. La filière des huiles végétales avec l'EMHV pour les véhicules diesel. |

III. Les champignons cellulolytique

III.1.Trichoderma harzianum

III.2.Introduction générale

Les *Trichodermaspp* sont des champignons cosmopolites, caractérisés par leur croissance rapide, leur capacité d'utiliser divers substrats et leur résistance à des agents chimiques nocifs (Klein et Eveleigh, 1998). Ils constituent les éléments prédominants de la mycoflore des sols de divers écosystèmes (forêts, champs agricoles, prairies, marécages, déserts, lacs salés) (Danielson et Davey, 1973 ; Roigeret *al.*, 1991 ; Smith, 1995 ; cellulose des végétaux (Klein et Eveleigh, 1998). Le genre *Trichoderma* renferme des espèces les plus utilisées en tant qu'agents de lutte biologique contre les phytopathogènes et comme source d'enzymes et de métabolites secondaires d'intérêts biotechnologique (Kubicek et Penttilä, 1998 ; Sivasithamparam et Ghisalberti, 1998).

III.1.2. Morphologie

La majorité des espèces de *Trichoderma* sont morphologiquement très semblables et difficiles à distinguer. L'aspect macroscopique des *Trichodermasp* est apprécié à partir de cultures sur géloses nutritives appropriées, réparties en boîtes de Pétri. Les colonies fongiques peuvent être légèrement floconneuses ou bien compactées en touffes. Entre ces deux extrêmes, existent des aspects intermédiaires. Les colonies sont colorées en fonction de la pigmentation des phialides. Cinq jours après sa germination, la conidie donne naissance à un mycélium d'abord blanc et stérile en forme de cercle. Deux jours plus tard, une couleur verte est visible sur les parties aériennes du mycélium, correspondant à la conidiogenèse. D'autres cercles concentriques réguliers se forment par la suite, et entre le 16^{ème} et le 20^{ème} jour un feutrage épais se superpose à la culture. Au microscope optique on peut observer un mycélium composé d'hyphes jaunes, septés, ramifiés à parois lisses. Les conidiophores (Figure 6) ont une forme conique ou pyramidale. Très ramifiés, ils portent des phialides en forme de flasques ou de quilles. A leur tour, les phialides portent les spores (Kubicek *et al.*, 2003).

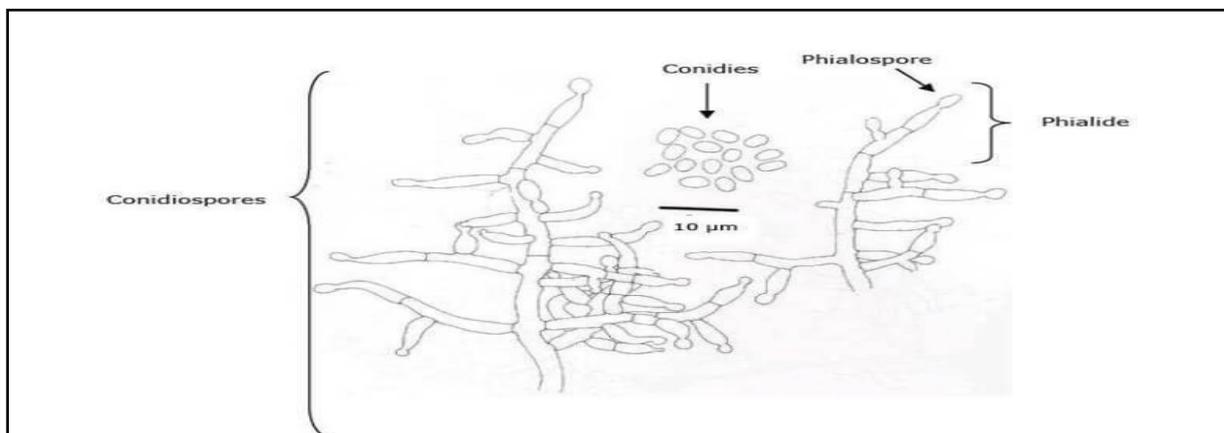


Figure 6 : Aspect microscopique de *Trichoderma* (Botton *et al.*, 1990).

III.1.3. Taxonomie

La division du genre *Trichoderma* en espèces a fait l'objet de nombreuses études et de beaucoup de discussions. Dans le règne vivant les limites de «l'espèce» reposent sur la possibilité de croisement entre individus. Or, les champignons anamorphes du genre *Trichoderma*, en tant que tels, n'ont pas de

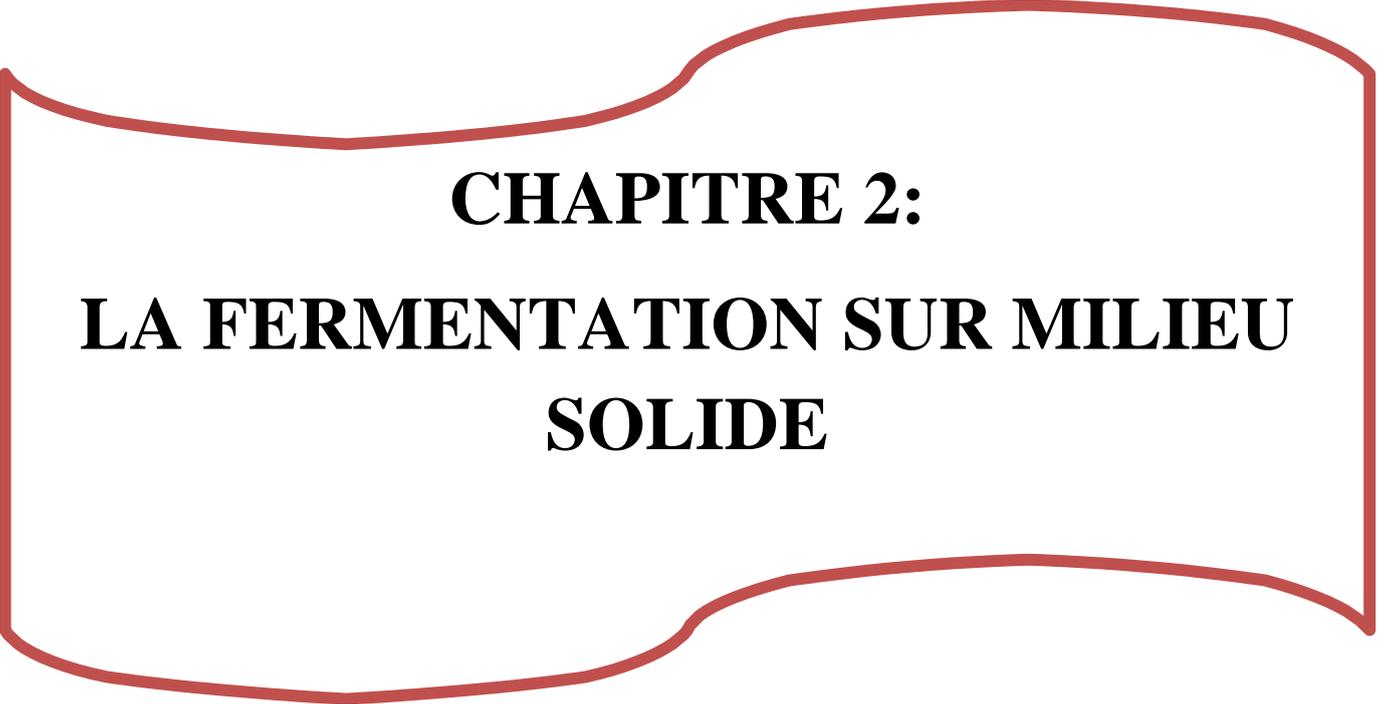
reproduction sexuée connue, et ce caractère ne peut donc être utilisé pour leur systématique. On se base alors sur les aspects culturels et la morphologie des appareils sporogènes (Roquebert, 1996). La taxonomie moderne des champignons a aboli l'embranchement des Deuteromycotina, auquel appartenait le genre *Trichoderma*. La position taxonomique actuelle des *Trichoderma* se présente comme suit, selon (Bissett, 2004), tableau 4.

Tableau 4. La position taxonomique actuelle des *Trichoderma* sp (Bissett., 2014).

| | |
|---------------------------|--|
| Embranchement | Amastigomycota et /ou Eumycètes |
| Sous embranchement | Ascomycotina |
| Classe | Sordariomycètes |
| Ordre | Hypocréales |
| Famille | Hypocracea |
| Genre | Hypocreomistosporique (<i>Trichoderma</i>) |

III.1.4. Ecologie

Grâce à sa grande capacité d'adaptation aux différentes conditions climatiques, le genre *Trichoderma* est très répandu dans la nature, aussi bien en milieu terrestre que marin (Roquebert, 1996 ; Esposito et Silva, 1998). Les *Trichoderma* sp sont des champignons cosmopolites, caractérisés par leur croissance rapide, leur capacité d'utiliser divers substrat et leur résistance à des agents chimiques nocifs. Ils constituent les éléments prédominants de la mycoflore des sols de divers écosystèmes (forêts, champ agricoles, prairies, marécages, déserts, lacs salés ...) (Klein et Eveleigh, 1998). En effet, l'abondance des *Trichoderma* sp dans les écosystèmes est due à leur capacité à produire diverses substances biologique (Kubiceket *al*, 2003).

A decorative red border with a wavy, hand-drawn appearance, framing the central text.

CHAPITRE 2:
LA FERMENTATION SUR MILIEU
SOLIDE

I. Définition de fermentation en milieu solide

Le terme "fermentation en milieu solide" est la traduction de "Solide state fermentation" ou de "Solide substrate fermentation", expressions employées par Hesseltine (1972) pour désigne "toute fermentation dans laquelle le substrat n'est pas liquide" et possède une granulométrie et une structure organisée (Hesseltine, 1965). Nous dirons plus précisément : les fermentations dans lesquelles le substrat n'est ni solubilisé ni en suspension dans un grand volume d'eau (Hasseltine, 1972).

La fermentation en milieu solide est un procédé technologique qui reproduit les conditions de vie naturelle des microorganismes, en particulier celles des champignons filamenteux et des champignons supérieurs, en permettant leur développement (adhésion) à la surface d'un support organique (Holker et Lenz, 2005). De façon simplifiée, les microorganismes se développent dans un système à trois phases: une matrice solide, une phase liquide qui lui est liée et une phase gazeuse prise au piège dans les particules où entre celles-ci (Rahardjo et al. 2006).

Les champignons filamenteux sont particulièrement bien adaptés à ces cultures du fait de leur résistance à une faible activité en eau et à une pression osmotique élevée. Le développement des champignons filamenteux en FMS se fait par extension et ramification des filaments formant le mycélium. Après l'inoculation d'un substrat par des conidies, les hyphes se développent pour former un tapis mycélien qui s'étend à la surface des particules solides. Les activités métaboliques se produisent principalement près de la surface où à l'intérieur des pores, mais les filaments aériens peuvent présenter une activité due à des phénomènes de diffusion. Pour finir, les enzymes hydrolytiques diffusent dans la matrice solide et dégradent les polymères afin de permettre la production de molécules assimilables par le champignon (Holker et lenz, 2005).

II. Les avantages et les inconvénients

II.1. Les avantages

La fermentation en milieu solide présente un certain nombre d'avantages par rapport au fermentation en milieu liquide que Lambert et Meers (1983) ont résumé de la façon suivante:

1. L'aération est plus facile à travers les espaces du substrat granuleux ; l'agitation du substrat lorsqu'elle intervient, est discontinue.

2. L'absence de phase liquide et l'humidité faible du substrat permettent:

- de réduire le volume des fermentations.
- d'éviter les effluents à traiter.
- d'économiser des réactifs lors de la récupération des métabolites.
- d'éviter les contaminations bactériennes grâce à une faible humidité.
- D'éviter parfois de stériliser le substrat (Raimbault et Germon, 1976).

3. Les milieux de culture sont très simple (céréales, lignocelluloses additionnée de quelques sels minéraux).

4. De plus les opérations de mélange étant facilement modulables, il n'y a pas de production de mousses lors des fermentations solides, contrairement aux fermentations liquides (Durand, 1983).

II.1. Les inconvénients

1. Les microorganismes utilisés sont limités. En effet, seuls les microorganismes se développant bien aux basses humidités peuvent être employés.

2. Les problèmes de transfert d'oxygène et de chaleur rendent difficile l'augmentation d'échelle des procédés.

3. La nature solide et hétérogène des substrats utilisés complique le suivi direct des paramètres de fermentation.

4. Les microorganismes étant inséparables du substrat, l'estimation de la biomasse est délicate. Étant donné la forte concentration des métabolites obtenus, des produits inhibiteurs générés par les microorganismes peuvent s'accumuler en concentration élevée dans le milieu de culture. (Bellon-Maurel *et al.* 2003).

III. Les diverses étapes suivies en fermentation solide

Les différentes étapes suivies au cours d'une fermentation solide sont : la préparation du substrat ou du milieu de culture et la stérilisation facultative du milieu (généralement à 121 °C pendant 21 minutes) suivie par le refroidissement de celui-ci, l'inoculation du milieu de culture, l'incubation du milieu inoculé en maintenant dans la mesure du possible les conditions environnementales optimales.

III.1. La préparation du substrat carboné

Les substrats carbonés utilisés en fermentation solide proviennent essentiellement des résidus agricoles et agroalimentaires. Ce sont les substrats lignocellulosiques (paille, son, bagasse, pulpe, etc.), les féculents (résidus de banane, de soja, les graines, etc.), les supports synthétiques (mousse de polyuréthane, résine polymérique, etc.). La préparation du substrat carboné vise à lui faire subir divers traitements physiques, chimiques ou biologiques (enzymes) afin de favoriser une grande accessibilité des constituants aux microorganismes. Le traitement physique peut se faire soit mécaniquement (broyage, concassage, hachage, aplatissage), soit thermiquement (autoclavage), soit par irradiation ou par ultrason cation. Le traitement chimique se fait par la voie des alcalis, acides, oxydants, gaz et solvants (Assamoi *et al.*, 2009).

III.2. L'inoculation et incubation du milieu de culture

L'inoculation du milieu de culture se fait le plus souvent à partir d'une suspension de spores. Celles-ci restent viables plus longtemps que du mycélium et sont moins sensibles aux conditions externes et se conservent plus facilement (Assamoi *et al.*, 2009). Par ailleurs, l'optimisation des conditions d'incubation est une étape très importante au cours de la fermentation, elle permet d'avoir une bonne croissance de la souche dans son substrat et un meilleur rendement des métabolites désirés.

III.3. L'extraction

À la fin de la fermentation, la biomasse solide est traitée avec l'eau distillée et agitée soigneusement sur un agitateur mécanique. L'ensemble du contenu est filtré à travers une mousseline et le résidu est traité à nouveau avec l'eau distillée de la même manière et

filtré. Les filtrats sont regroupés et centrifugés, et le surnageant clair est utilisé comme source de métabolites (Kunamneni, 2005).

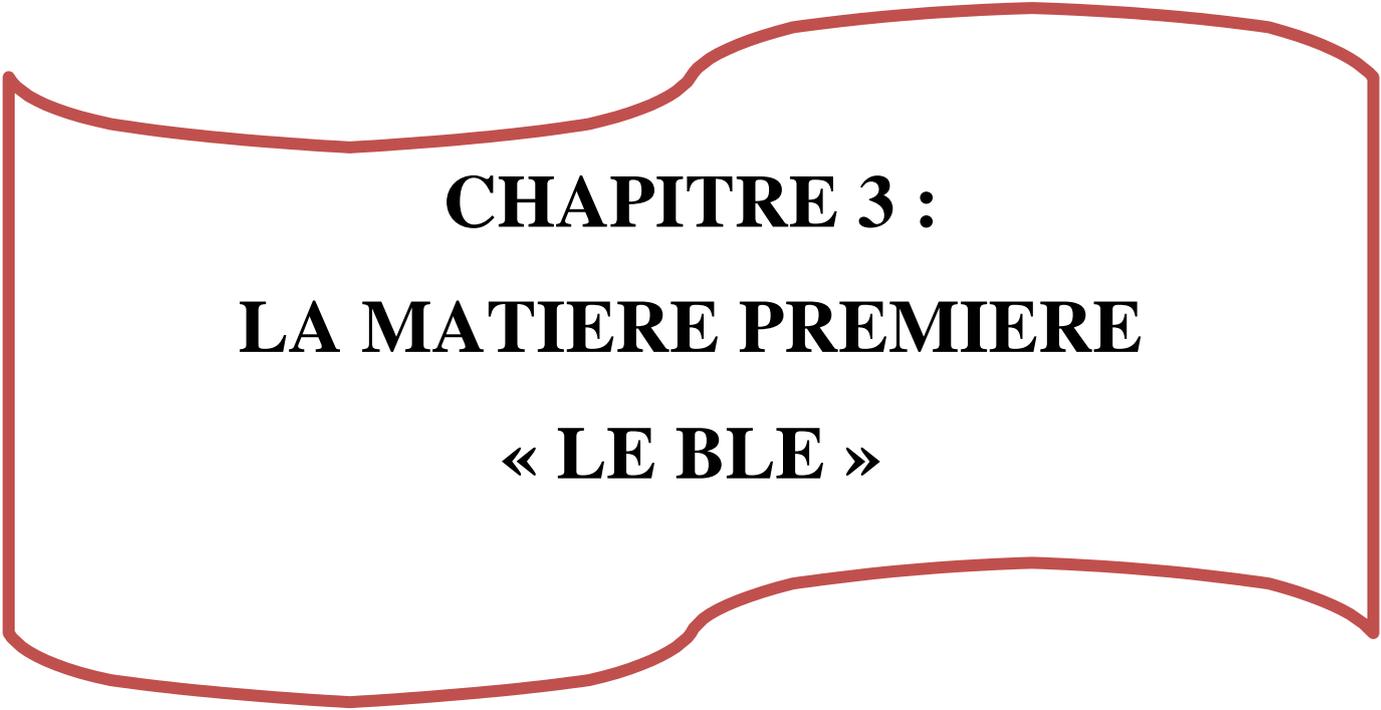
IV. Domaine d'application de la fermentation solide

D'une manière générale, les applications de la fermentation solide concernent, selon Assamoi et al, (2009), l'alimentation humaine (fromages, production de champignons comestibles, koji, choucroute et saucissons secs), le compostage et l'ensilage, la bio-filtration de gaz malodorants, la production d'aliments riches en protéines pour l'alimentation animale, la production d'enzymes (amylases, cellulases, xylanases, etc.) et de métabolites spécifiques (éthanol, acides organique, citrique, etc.). Dans les applications industrielles, la fermentation à l'état solide peut être utilisée d'une manière contrôlée pour fabriquer le produit désiré. Le développement de bioprocédés, comme la biorestauration et biodégradation des composés dangereux, désintoxication biologique des résidus agro-industriels, la bioconversion de la biomasse, la biotransformation des résidus de culture pour l'enrichissement nutritionnel des produits à valeur ajoutée, tels que les produits biologiquement actifs, y compris les antibiotiques, les alcaloïdes, les enzymes, les acides organiques, les bio pesticides, les biocarburants etc (Singhania, 2009). Quelques exemples des applications de la fermentation solide sont rapportés dans le tableau 5.

Tableau 5 : Principales applications des processus de la fermentation solide dans les divers secteurs économiques (Raimbault, 1981).

| | Applications | Exemples |
|------------------------------|--|--|
| Industrie alimentaire | Fermentations traditionnelles d'aliments | Koji, Trempeh, Fromages fermentés. |
| | Les sous-produits de bioconversion | Ensilage, pulpe de café, compostage, désintoxication |
| | Additifs | Saveurs, colorants, acides organiques essentiels. |
| Agriculture | Biocontrol, bio insecticide | <i>Beauveriametarhizium</i> |
| | Croissance des plantes, hormones | Gibbérelline |

| | | |
|----------------------------------|--------------------------------|--|
| Fermentation industrielle | Production d'enzymes | Amylases, cellulases, protéases, pectinases, xylanases |
| | Production d'antibiotiques | Pénicilline |
| | Production d'acides organiques | Acide lactique, acide gallique, acide fumarique, acide citrique. |
| | Production d'éthanol | Maltage et brassage d'espèce <i>Schwanniomyce</i> |
| | Métabolites fongiques | Hormones, alcaloïdes. |

A decorative red border with a wavy, hand-drawn appearance, framing the central text.

CHAPITRE 3 :
LA MATIERE PREMIERE
« LE BLE »

I. Leblé

I.1. Présentation

Le blé est cultivé depuis longtemps. Les céréales forment un ensemble de plantes à la base de l'alimentation humaine. Notamment le blé, ou le froment qui appartient aux graminées. On distingue 2 types de blés: le blé tendre / blé dur.

• **Le blé tendre** (*Triticum aestivum* ou *vulgare*), est plutôt adapté aux climats tempérés. Ses débouchés sont:

- 20% vers la meunerie (fabrication du pain, des pâtisseries et des biscuits).
- 20% vers l'amidonnerie.
- 10% vers l'alimentation animale.
- 50% exportée.

• **Le blé dur** (*Triticum durum*), préfère les climats secs et chauds. Il représente 3,3% de la production française et est utilisé dans l'industrie des pâtes et de la semoule (Wallonie, 2017).

II. La structure du blé

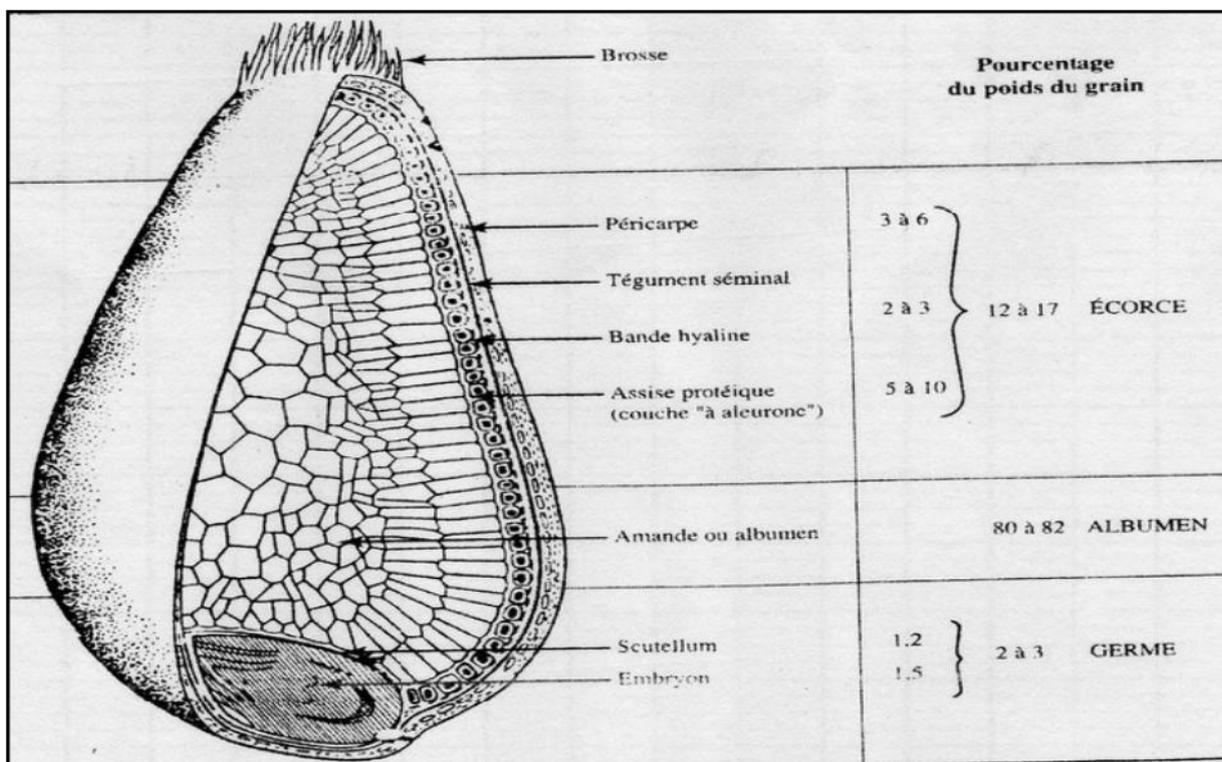


Figure 7 : La structure du blé. (Wallonie, 2017).

III. La composition du blé

Le blé est constitué de très peu d'eau: 12 à 18% (Aw faible). Par contre il y a beaucoup de glucides: 63 à 74,5%, surtout de l'amidon. L'amidon chauffé en présence d'eau, se gélatinise, il est substrat de fermentation et joue un rôle dans la formation de la croûte, notamment celle du pain.

Il y a également du pentosane (polymère de pentoses) qui accélèrent le pétrissage et améliore la rétention gazeuse. Les sucres: Glucose, Maltose, Fructose, Saccharose...sont facilement assimilables par la levure ce qui lui permet de démarrer la fermentation. Il y a peu de fibres: 2,5 à 3%, des celluloses qui favorisent l'absorption d'eau et le gonflement de la pâte lors de la cuisson. On trouve aussi des protéines solubles, des enzymes insolubles comme le gluten par exemple (10 à 11%).

Les lipides constituent 1,5 à 2% de la composition du blé, notamment des ester d'acides gras polyinsaturés, de la vitamine E. Ils ont un rôle de tensioactifs sur le gluten et l'amidon ce qui donne une meilleure panification. Enfin il y a 1,5 à 2% des matières minérales, ce sont les oligo-éléments (Wallonie, 2017).

IV. L'utilisation du blé

IV.1. Le blé tendre

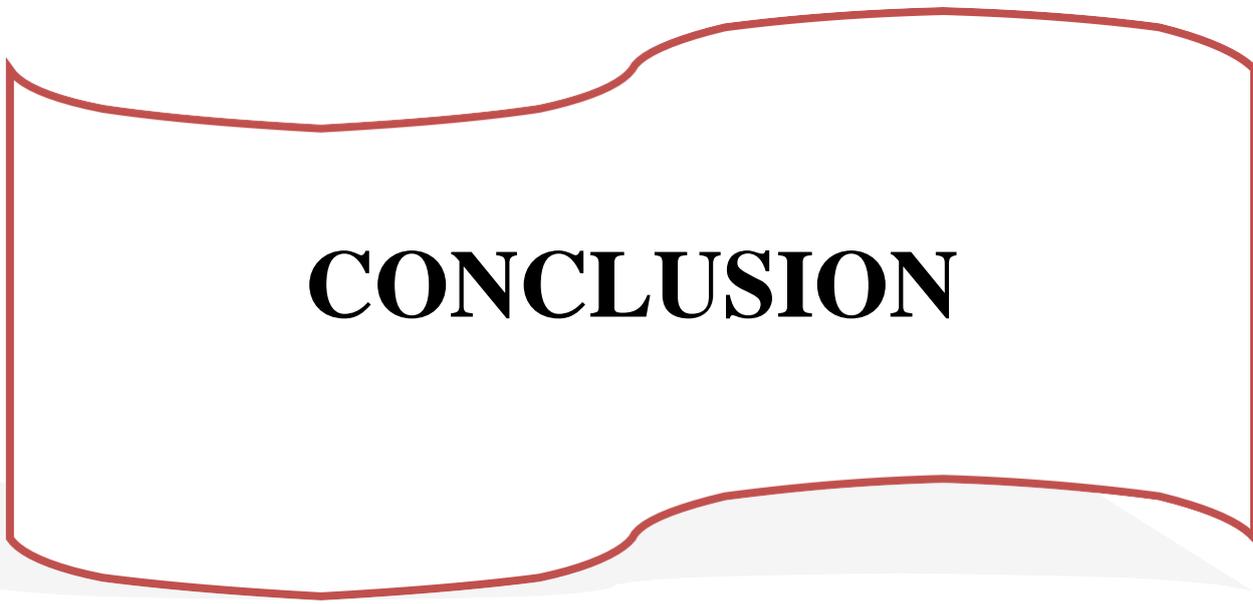
Pour l'alimentation humaine, le blé tendre, aussi appelé froment est moulu en farine et principalement utilisé pour la fabrication du pain et des biscuits. La farine de blé tendre est dite panifiable, c'est à dire qu'elle contient du gluten.

Le blé tendre fourrager entre aussi dans la composition d'aliments pour les volailles, porc, ovins et bovins. L'amidon (glucides complexes) qui compose 55% de la graine est aussi transformé en glucose pour être utilisé comme additif dans de nombreux produits alimentaires. Il est également utilisé dans la fabrication de papier, de cosmétique, de textile, d'agrocarburants... Le germe du blé est aussi valorisé en pharmacie notamment pour sa haute teneur en vitamine E (Wallonie, 2017).

IV.2. Le blé dur

Le blé dur, comme son nom l'indique, a des grains plus durs que le blé tendre. Ceux-ci ne peuvent pas être réduits en farine. Il est utilisé pour la fabrication des pâtes mais aussi des semoules, du pilpil, du boulghour ou du blé concassé.

Le blé dur est principalement cultivé dans les régions chaudes et sèches. On n'en produit pas en Belgique (Wallonie, 2017).

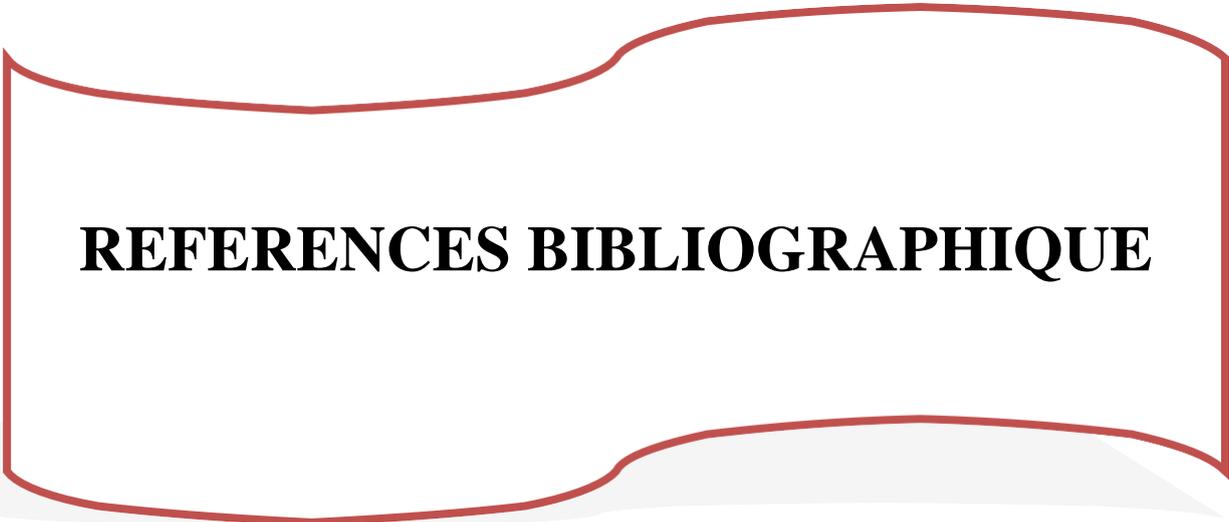


CONCLUSION

Conclusion

Certains organismes vivants en milieu naturel décomposent par des voies enzymatiques la cellulose en glucose.

Le but de notre étude est la production de la cellulase par le champignon filamenteux *Trichoderma harzianum* ; sur milieu solide (blé). Pour cela, le blé est utilisé comme un substrat naturel, ce qui permet une valorisation de ces derniers et la préparation des milieux à faible coût ce qui exige la production d'enzyme industrielle. A travers cette étude, nous remarquons donc l'intérêt de poursuivre les investigations des champignons à usage industriel pour la production de métabolites, spécifiquement les cellulases. Le genre *Trichoderma* est une des espèces plus utilisées en tant qu'agents de lutte biologique contre phytopathogènes et comme source d'enzymes et de métabolites secondaires d'intérêt biotechnologiques.



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

- ❖ **Alarcon-Gutiérrez E. (2007).** Influence de facteurs abiotiques sur la régulation des paramètres microbiens impliqués dans la dégradation de la matière organique d'une litière forestière méditerranéenne. Thèse de Doctorat en Sciences de l'Environnement, Université Paul Cézanne, Marseille, 226p.

- ❖ **Ando S, Ishia H, Kosugi Y et Ishikawa K. (2002).** Hyperthermostable endoglucanase from *Pyrococcus horikoshii*. *Applied and Environmental Microbiology*. **68** (1), 430-433.

- ❖ **Arnaud A et Guiraud JP. (1999).** le métabolisme microbien. In : *Biotechnologie*. Scriban R. 5^{ème} Edition Tec et Doc, Lavoisier, Paris, pp.43-192.

- ❖ **Assamoi A, Destain J, Thonart P. (2009).** Aspects microbiologiques de la production par fermentation solide des endo- β -1,4-xylanases de moisissures : le cas de *Penicillium canescens*. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* Vol 13 No 2, pp :281-294.

- ❖ **Barnoud F. (1980).** La cellulose. In : Monties B. les polymères végétaux. Edition : gauthier-villars, Paris, pp.66-85.

- ❖ **Bellon-Maurel V., Orliac O. & Christen P., (2003).** Sensors and measurements in solidstate fermentation: a review. *Process Biochem.*, No 38, pp : 881-896.

- ❖ **Bissett J. (2004).** Commentaires de l'adresse internet suivante
[:http://www.Medicalglossary.org/fungi_mitosporic_fungi_definitions.html](http://www.Medicalglossary.org/fungi_mitosporic_fungi_definitions.html)

- ❖ **Bonnin E, Renard C, Thibault J-F et Ducroo P. (1997).** Les enzymes de dégradation des parois végétales : mode d'action et utilisation alimentaires. In : Larreta-Garde V. *Enzyme en agroalimentaire*. Edition : Tec et Doc, Lavoisier, Paris, pp.168-200.

- ❖ **Botton B., Breton A., Fevre M., Gauthier S., Guy Ph., Larpent H P., Reymond P., Nevalainen K M H., Palva E J. (1990).** Production of extracellular enzymes in mutant isolated from *Trichoderma viride* unable to hydrolyse cellulose. *Appl Environ Microbiol*, 33, P: 11-16.

- ❖ **Buchholz K Rapp P et Zadrzil F. (1983).** Methods of enzymatic analysis. Edition Bergmaeyer, HU. Verlag Chemie, Weinheim. **2**, 178-180.

- ❖ **Cullen D et Kersten P. (1992).** 4 Fungal enzymes for lignocellulose degradation. In: Kinghorn, JR et Turner G. *Applied molecular genetics of filamentous fungi*. Chapman et Hall. New York, pp.100-131.

- ❖ **Danielson R.M., Davey D.E., (1973).** The abundance of *Trichoderma* propagules and the distribution of species in forest soils. *Soil Biology and Biochemistry* **5**:486-494.

- ❖ **Durand A., 2003.** Bioreactor Designs for Solide-State Fermentation. *Biochem. Eng. J.*, 13,113-125.
- ❖ **Fonty G. et Chaucheyras-Durand F. (2007).** Les écosystèmes digestifs. Edition : technique Documentation, Paris,331p.
- ❖ **Hesseltine E C.W. (1972).** "Solid state fermentations". *BioiotechnoL. Bioeng.*, 2,517 - 532.
- ❖ **Hesseltine., C. W. (1965).** A millenium of fungi, food and fermentation. *Mycologia*-5- 7 :149-157.
- ❖ **Holker U, Hofer M, Lenz J.,**Biotecgnological advantages of laboratory-scalsolide-state fermentation with fungi. *Applied microbiology and Biotechnology*, avril 2004, vol. 64, n°2, p. 175-186.
- ❖ **Juwaied AA, Hussain Al-amiery AA, Abdumuniem Z etAnaam U. (2011).** Optimization of cellulase production by *Aspergillus niger*and *Trichoderma viride*using sugar cane waste. *Journal of Yeast and Fungal Research*. **2(2)**, 19 -23.
- ❖ **Klein D., Eveleigh D.E., 1998.** Ecology of *Trichoderma* In*Trichoderma* and *Glicoladium*; Basic biology, taxonomy and genetics, pp.57- 74. Taylor and Francis Ltd, London, UK.
- ❖ **Kubicek C.P., Penttilä M.E., 1998.** Regulation of production of plant polysaccharide degrading enzyme by *Trichoderma*. In *Trichoderma* and *Glicoladium*. Vol 2 Enzymes, biological control and commercial applications, pp. 49-71. Taylor and Francis Ltd,London.
- ❖ **Kubicek C P., Bissett J., Druzhinina I., Kullnig-Gradinger C., Szakacs G.(2003).** Geneticand metabolic diversity of *Trichoderma* sp.: a case study on South-East Asian isolates. *Fungal Genet Biology*. 38 (3): 310-319.
- ❖ **KunammeniA .,KugenP.,and Suren S.(2005).** Amylase production in solid state fermentation by the thermophilic fungus *Thermomyceslanuginosus*. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, pp:100,168-171.
- ❖ **LAMBERT, P. W., MEERS, J. L. (1983).** The production of industrial enzymes. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B m30m0-: :263-282.*
- ❖ **Lekounougou S. (2008).** Evaluation et Compréhension des Mécanismes fongique impliqués dans la dégradation du bois. *Sciences du Bois*. Université Henri Poincaré, France,147p.
- ❖ **Little K., Steven G. (2004).** The diplomate in school psychology : Academic school psychologists. Addressing the shortage . 41 :451-459.

- ❖ **Lopes ferreira, Nicolas.** Valorisation des ressources renouvelables : de la production d'éthanol au développement de nouveaux bioproduits. Journal de la Société de Biologie [en ligne], novembre 2008, vol. 202, n°3, p. 191-199. Disponible à l'adresse: <http://dx.doi.org/10.1051/jbio:2008021>.
- ❖ **Lynd L. R., Weimer P. J., Van Zyl W.H., and Pretorius I. S. (2002).** Microbial Cellulose Utilization: Fundamentals and Biotechnology. Microbiology and Molecular Biology Reviews, Vol 66 No 3, pp:506-577.
- ❖ **Marouf A et Tremblin G. (2009).** Abrégé de biochimie appliquée. Edition: EDP science. France.483p.
- ❖ **Muhammad Imran^{1,2*}, Zahid Anwar², Muhammad Irshad², Muhammad Javaid Asad³, Hassan Ashfaq.** Cellulase Production from Species of Fungi and Bacteria from Agricultural Wastes and Its Utilization in Industry: A Review, mai 2016, n°4, p.44-55.
- ❖ **Nishikawa K., Yekta A., Pham H.H., and Winnik M.A. (1998).** Fluorescence studies of hydrophobically modified hydroxyethylcellulose (HMHEC) and pyrenelabeled HMHEC. Langmuir, No 14, pp :7119-7129.
- ❖ **Odier E, Rouau X. (1985).** Les cellulases et les enzymes de polymérisation de la lignine. Edition Gauthier- Villard. Paris. pp.199-214.
- ❖ **O'DWYER.J P. (2005).** Developing a fundamental understanding of biomass structural features responsible for enzymatic digestibility .Doctor of philosophy. Texas A&M University, 313p.
- ❖ **Percival zhang, Y.-H., Himmel, Michael E., Mielenz, Jonathan R. (2006).** Outlook for cellulase improvement: Screening and selection strategies. Biotechnology Advances [enligne], vol. 24, n°5, p. 452-481. Disponible à l'adresse :<http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2006.03.003>.
- ❖ **Rahardjo Y.S.P., Tramper J. & Rinzzema A., 2006.** Modeling Conversion and Transport Phenomena In Solide-State Fermentation: A Review And Perspectives. *Biotecnol.Adv.*, 25 (2),161-179.
- ❖ **Raimbault M. (1981).** Fermentation en milieu solide, croissance de champignons filamenteux sur substrats amylacé. Edition O.R.S.T.M. Bondy France.291p.
- ❖ **Receveur V., Czjzek M., Schulein M., Panine P., Henrissat B. (2002).** Dimension, shape, and conformational flexibility of a two-domain fungal cellulase in solution probed by small angle X-ray scattering. The journal of Biological Chemistry. 277(43), P:40887-40892.
- ❖ **Reguant J, et Rinaudo M (1999).** Etude bibliographique sur les matériaux issus de la biomasse végétale.CRS ; pp1-164.
- ❖ **Receveur V., Czjzek M., Schulein M., Panine P., Henrissat B. (2002).** Dimension,

shape, and conformational flexibility of two domaine fungal cellulases in solution probed by small angle X-ray scattering. The journal of Biological Chemistry. Vol 277, No 43. pp: 40887-40892.

- ❖ **Res D, Vian B. et Bajon C. 2006.** Le monde des fibres. (Eds), Belin, Paris, pp.17-26.
- ❖ **Roussos S. (1987).** croissance de *Trichoderma Harzianum* par fermentation en milieu solide : physiologie, sporulation et production de la cellulases. Edition ORSTOM. Paris. 193p.
- ❖ **Roquebert, M.-F. ? 1996.** Interaction antagonistes des *Trichoderma* sp dans les systèmes telluriques : Systématique, biologie et écologie des organismes. Comptes rendus des 4èmes Rencontres en Toxinologie, Paris, 13-15.
- ❖ **Roiger D.J., Jeffers S.N., Cladwell R.W., 1991.** Occurrence of *Trichoderma* species in apple orchard and woodland soils. *Soil Biology and Biochemistry* 23:353-359.
- ❖ **Sanyal A, Kundu RK, Dube S et Dube DK. (1988).** Extracellular cellulolytic enzyme system of *Aspergillus japonicus*. Purification and characterisation of an inducible extracellular -glucosidase. *Enzyme. Microb. Technol.* 10,91-99.
- ❖ **Sasson N. (1986).** Quelles biotechnologies pour les pays en développement. Edition biofutur/ Unesco. Diffusion TEC & Doc Lavoisier. Paris. 200p.
- ❖ **Schamburg D., Salzman M G B F. (1991).** Cellulase. *In: Enzyme Handbook*, Vol IV. Springer-Verlag Berlin, p:1-11.
- ❖ **Scriban R. (1999).** Biotechnologie : 5ème édition. Technique et documentation Edition : Lavoisier, pp:149-157.
- ❖ **Singh A., Agrawal K.A., Abidi A.B., Darmwal N.S. (1990).** Properties of exoglucanase from *Aspergillus niger*. *J. Gen. App. Microbiol.* 36,245-253.
- ❖ **Singhania RR. (2009).** Cellulolytic enzymes. *In : Biotechnology for agro-industrial Residues utilisation: utilization of agroresidues Singh née nigam P et Pandey A.* Edition: Springer, pp. 372-381.
- ❖ **Smant G, Stokkermans JPWG, Yan Y, De Boer JM, Baum TJ, Wang X, Hussey RS, Gommers FJ, Henrissat B, Davis EL, Helder J, Schots A et Bakker J. (1998).** Endogenous celluloses in animals: isolation of β -1,4 endoglucanase genes from two species of plant-parasitic cyst nematodes. *Biochemistry.* 95 (9),4906-4911.
- ❖ **Tahir Nadem M. (2009).** Production, purification, and characterization of carboxymethylcellulase for food application. Doctor of Philosophy. National Institute of Food science and technology. University of agriculture, Faisalabad, 189p.

Production de cellulase par *Trichoderma harzianum* cultivée sur le blé

La cellulose est un substrat glucidique utilisé comme une source carbonique et énergétique pour les microorganismes cellulolytiques tels que les champignons microscopiques. Ces derniers sécrètent des enzymes qui ont la capacité d'hydrolyser la cellulose en glucose, ces enzymes appelés les cellulases.

Pour une optimum production des cellulases, il faut que les moisissures cultivent dans des milieux de culture à des conditions optimales tels que le pH, la T° et le substrat carboné. En plus de ces conditions; la sélection de la meilleure souche performante est l'une des premières étapes dans cette production. *Trichoderma harzianum* est la plus espèce des moisissures utilisée.

Ces enzymes peuvent être obtenus à partir du blé, à moindre coût par fermentation en milieu solide.

Mots clés : Cellulase, *Trichoderma harzianum*, fermentation en milieu solide, le blé.

Membres du jury :

Présidente : Mme BENKAHOUL Malik (M. C.B- Université Constantine 1)

Rapporteur : Mme ALMI Hiba (M.C. B. université constantine 1)

Examinatrice : Mme MERGOUD Lilia (M. A. A-Université Constantine 1)

Préparé par :

DERARDJA NOURHANE

DEKKICHE ABIR

Année universitaire : 2019-2020